



WILTORGANISATION FOR GEISTIGES EIGENTUM:

**INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)**

(51) Internationale Patentsklassifikation 5 : A61K 37/64, C07K 5/02, 7/02	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 23. August 1990 (23.08.90)	WO 90/09191
------------------------------------------------------------------------------	----	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------

ADIK 3/164, CW/K 3/02, 1/02	768	(2) Zeit / Revisionen	Veröff. / Festl. / Eingangsdatum:	23. August 1990 (23.08.90)
-----------------------------	-----	-----------------------	-----------------------------------	----------------------------

(721) Internationales Abzweigen: PCT/EPO/2002:19
(722) Internationales Ausgedeutet: 9. Februar 1990 (09.02.90)

30) Prioritätsdatensatz: P 39 04 040.2
10. Februar 1989 (10.02.89) DE

717(73) **Kasseler und Erhardt:** SCHRAMM, Wolfgang (DE/DE; Medizinische Kliniken Innenstadt der Universität München; Ziemsenstr. 1, D-8000 München 2 (DE)). SCHRAMM, Hans, J. (DE/DE; Max-Planck-Institut für Biochemie, Am Kloppsteig, D-8033 Martinsried).

74) Anwalt: DEUFEL, Paul; Isartorplatz 6/IV, Postfach 26 02
47, D-8000 München 26 (DE).

S4) Title: AGENT FOR INHIBITING SYMMETRICAL PROTEINS, IN PARTICULAR ENZYMES

**§4) Bezieldung: MITTEL ZUR HEMMUNG VON SYMMETRISCHEN PROTEINEN, INSBESONDERE VON ENZY-
MEN**

570 Abstracts

An agent for inhibiting symmetrical proteins, in particular enzymes, consists of structurally symmetrical or almost symmetrical enzyme inhibitors. The molecules of these enzyme inhibitors have a structure with the same symmetry as the molecule of the enzyme to be inhibited or a structure with partly or approximately the same symmetry as the molecule of enzyme to be inhibited, but in any case with sufficient symmetry to ensure inhibition.

57) Zusammenfassung

Die Erfingung beruht auf der Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere der Enzyme, insbesondere der Hemmung der HIV-Protease, in Form von unvollständig oder fast symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren, das sich dadurch auszeichnet, dass diese Enzyminhibitoren selbst sind, deren Modell in Bezug auf das hemmende Enzymmolekül unvollständig symmetrisch oder teilweise oder antithetisch, jedoch zur Hemmung dienend, symmetrisch ist.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragstaaten auf den Kopfseiten der Schriften, die internationale Verträge zwischen einem oder mehreren Staaten zum Gegenstand haben, veröffentlicht werden.

[illegible]

-1-

Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere von Enzymen.

- 1 Die Erfindung betrifft ein Mittel zur Hemmung von symmetrischen Enzymen, insbesondere zur Inhibierung der HIV-Protease bzw. Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast oder teilweise symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren.

Die spezifische Hemmung von Fremdenzymen (aus pathogenen Bakterien oder Viren) oder von körpereigenen Enzymen in pathologischen Zuständen ist ein wichtiges Anliegen der Medizin, da sie eine schonende Therapie von Erkrankungen erlaubt. Die Erfindung resultiert aus Versuchen, solche spezifischen Hemmstoffe für die Immunschwächekrankheit AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) zu finden. Sie erfolgten an der Protease, kurz auch "Protease" genannt, von HIV (Human Immunodeficiency Virus), einem spezifischen Enzym der AIDS verursachenden HI-Viren. Dieses Enzym ist für die Prozessierung der Vorläuferproteine verantwortlich. Es spaltet aus ihnen die fertigen Virusproteine heraus, aus denen dann das komplette Virus assembliert wird. Eine

spezifische Hemmung der HIV-Protease sollte die Vermehrung der Viren unterbinden und die Symptome kurieren. Die Strategie der spezifischen Hemmung der Protease ist bei AIDS besonders bedeutungsvoll, da einmal immunologische Hemmnisse des Körpers zu zerstören, und andererseits die Therapie unter Verwendung der bisher bekannten Hemmstoffe der Reverse Transkriptase von HIV (z.B. AZT, EIZ, Suramin), einem anderen viruspezifischen Enzym, durch schwere Nebenwirkungen beeinträchtigt ist. Auch die Therapie von AIDS mittels anderer Verbindungen (z.B. der polysulfatierten Polysaccharide) ist noch nicht überzeugend demonstriert worden oder auch mit schweren Nebenwirkungen belastet.

Es gibt zahlreiche Literatur über die HIV-Protease, wozu beispielsweise verwiesen sei auf

LENGUOJI ŽUR INFORMACIJĄ

Codex, die zur Identifizierung von PCT-Vorgangssachen auf den Kopfbogen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäß dem PCT veröffentlicht.

AT Österreich	19 Spanien	14 Mexiko
AU Australien	21 Portugal	15 Norwegen
BE Belgien	22 Frankreich	16 Dänemark
BR Brasilien	23 Griechenland	17 Niederlande
CA Kanada	24 Italien	18 Belgien
CH Schweiz	25 Japan	19 Kanada
CY Zypern	26 Deutschland	20 Schweden
DE Deutschland	27 Österreich	21 Spanien
DK Dänemark	28 Österreich	22 Italien
EE Estland	29 Österreich	23 Spanien
ES Spanien	30 Österreich	24 Italien
FI Finnland	31 Österreich	25 Spanien
FR Frankreich	32 Österreich	26 Italien
GB Großbritannien	33 Österreich	27 Spanien
GR Griechenland	34 Österreich	28 Italien
IE Irland	35 Österreich	29 Spanien
IL Israel	36 Österreich	30 Italien
IN Indien	37 Österreich	31 Spanien
JP Japan	38 Österreich	32 Italien
KR Korea	39 Österreich	33 Spanien
LT Litauen	40 Österreich	34 Italien
LU Luxemburg	41 Österreich	35 Spanien
LV Lettland	42 Österreich	36 Italien
MT Malta	43 Österreich	37 Spanien
NL Niederlande	44 Österreich	38 Italien
NO Norwegen	45 Österreich	39 Spanien
PL Polen	46 Österreich	40 Italien
PT Portugal	47 Österreich	41 Spanien
RO Rumänien	48 Österreich	42 Italien
RU Russland	49 Österreich	43 Spanien
SE Schweden	50 Österreich	44 Italien
SI Slowenien	51 Österreich	45 Spanien
SK Slowakei	52 Österreich	46 Italien
UA Ukraine	53 Österreich	47 Spanien
US Vereinigte Staaten von Amerika	54 Österreich	48 Italien
UY Uruguay	55 Österreich	49 Spanien
VE Venezuela	56 Österreich	50 Italien
YU Jugoslawien	57 Österreich	51 Spanien
ZK Zentral-Asien	58 Österreich	52 Italien
ZS Zentral-Asien	59 Österreich	53 Spanien
ZS Zentral-Asien	60 Österreich	54 Italien
ZS Zentral-Asien	61 Österreich	55 Spanien
ZS Zentral-Asien	62 Österreich	56 Italien
ZS Zentral-Asien	63 Österreich	57 Spanien
ZS Zentral-Asien	64 Österreich	58 Italien
ZS Zentral-Asien	65 Österreich	59 Spanien
ZS Zentral-Asien	66 Österreich	60 Italien
ZS Zentral-Asien	67 Österreich	61 Spanien
ZS Zentral-Asien	68 Österreich	62 Italien
ZS Zentral-Asien	69 Österreich	63 Spanien
ZS Zentral-Asien	70 Österreich	64 Italien
ZS Zentral-Asien	71 Österreich	65 Spanien
ZS Zentral-Asien	72 Österreich	66 Italien
ZS Zentral-Asien	73 Österreich	67 Spanien
ZS Zentral-Asien	74 Österreich	68 Italien
ZS Zentral-Asien	75 Österreich	69 Spanien
ZS Zentral-Asien	76 Österreich	70 Italien
ZS Zentral-Asien	77 Österreich	71 Spanien
ZS Zentral-Asien	78 Österreich	72 Italien
ZS Zentral-Asien	79 Österreich	73 Spanien
ZS Zentral-Asien	80 Österreich	74 Italien
ZS Zentral-Asien	81 Österreich	75 Spanien
ZS Zentral-Asien	82 Österreich	76 Italien
ZS Zentral-Asien	83 Österreich	77 Spanien
ZS Zentral-Asien	84 Österreich	78 Italien
ZS Zentral-Asien	85 Österreich	79 Spanien
ZS Zentral-Asien	86 Österreich	80 Italien
ZS Zentral-Asien	87 Österreich	81 Spanien
ZS Zentral-Asien	88 Österreich	82 Italien
ZS Zentral-Asien	89 Österreich	83 Spanien
ZS Zentral-Asien	90 Österreich	84 Italien
ZS Zentral-Asien	91 Österreich	85 Spanien
ZS Zentral-Asien	92 Österreich	86 Italien
ZS Zentral-Asien	93 Österreich	87 Spanien
ZS Zentral-Asien	94 Österreich	88 Italien
ZS Zentral-Asien	95 Österreich	89 Spanien
ZS Zentral-Asien	96 Österreich	90 Italien
ZS Zentral-Asien	97 Österreich	91 Spanien
ZS Zentral-Asien	98 Österreich	92 Italien
ZS Zentral-Asien	99 Österreich	93 Spanien
ZS Zentral-Asien	100 Österreich	94 Italien

- 1 L.H. Pearl & W.R. Taylor, *Nature* (1987) 322, 351-354.
- I. Kato et al., *Nature* (1987) 329, 654-656
- C. Deboucq et al., *P.N.A.S.* (1987) 84, 8903-8906
- P.L. Darke et al., *B.D.Res.Comm.* (1988) 156, 297-303
- 5 S.F.J. Le Grice et al., *EMBO J.* (1988) 7, 2547-2553
- M.C. Graves et al., *P.N.A.S.* (1988) 85, 2499-2453
- M. Kotler et al., *P.N.A.S.* (1988) 85, 4183-4189
- S. Seelicher et al., *J.B.C.* (1988) 262, 17905-17908
- 10 E.P. Lillehoj et al., *P.N.A.S.* (1988) 85, 6612-6616
- E.P. Lillehoj et al., *J. Virol.* (1988) 62, 3053-3058
- L.E. Henderson et al., *J. Virol.* (1988) 62, 2587-2595
- H.-G. Kräusslich et al., *J. Virol.* (1988) 62, 4393-4397
- 15 M. Miller et al., *J.Mol.Biol.* (1988) 204, 211-212

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, eine effektivere Beeinflussung von Proteasen (durch die zugehörigen Proteine) zu erreichen, z.B. um eine effektivere Therapie von AIDS und anderen Krankheiten, bei denen Enzyme involviert sind, zu erzielen. Eine hohe Spezifität und ein günstiger therapeutischer Index ist dabei von entscheidender Wichtigkeit.

25 Diese Aufgabe wird gelöst durch Enzyminhibitoren, deren Molekül in Bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell von gleicher oder annähernd der teilweise gleicher Symmetrie sind wie das zu hemmende Enzymmolekül.

30 Derartige Enzyminhibitoren sind also bezüglich ihrer Symmetrie madgescheidert im Hinblick auf die Symmetrie des zu hemmenden Enzyms, das für das Fortschreiten der Krankheit essentiell ist. Diese Inhibitoren werden in an sich bekannter Weise synthetisiert und dann in ebenfalls in der Arzneifeldtechnik üblicher Weise, z.B. i.v. oder oral verabreicht, wobei die Hemmung der Enzyme durch die Verbindungen eine brauchbare Therapie darstellt.

- 1 Es wurde festgestellt, das strukturell symmetrisch gebaute (kurz "symmetrisch" genannte) Enzyminhibitoren besonders gut geeignet sind, um die Vermehrung von HI-Viren durch Hemmung der symmetrischen (aus zwei identischen Nukleokapsidmolekülen bestehenden) Viruskodierten Prozesse zu hemmen. Es wurde ferner erkannt, daß auch andere symmetrische Enzyme auf diese Weise gehemmt werden können. Symmetrische oder teilweise symmetrische Enzyminhibitoren sind bekannt (z.B. für eine Reverse Transkriptase, über deren Struktur und Wirkungsprinzip J. der Zusammenfassung von Symmetrie des Enzyms und Symmetrie des Enzymhemmer jedoch nicht.
- 5 Symmetrische Inhibitoren auf Peptidbasis sind, soweit bekannt, bisher nicht beschrieben worden und konnten auch nicht erwartet werden, da die natürlichen Substrate von Enzymen, auch von symmetrisch gebauten, nie symmetrisch sind. Der Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde, daß bei solchen Reaktionen (Bindung von unsymmetrischen Substraten an symmetrische Enzyme, bzw. Hemmung von symmetrisch gebauten Enzymen durch unsymmetrische Peptidinhibitoren) entweder nur eine - gut passende - Hälfte des Peptids für die Bindung verantwortlich ist und die andere Hälfte nur eine Hilfsfunktion besitzt oder daß beide Seiten nicht optimal passen, aber zusammen eine für die Hemmung ausreichende Affinität ergeben. Gut passende symmetrische Peptide und Peptidderivate (oder andere symmetrische organisch-chemische Verbindungen) sollten hingegen bei symmetrischen Enzymen allgemein eine stärkere Bindung (und gegebenenfalls Hemmung) vermitteln können als unsymmetrische Peptide.
- 30 Es wurde ferner erkannt, daß aus Unterheiten bestehende Enzymkomplexe - symmetrische wie unsymmetrische - gehemmt werden können, wenn der Zusammenhalt der einzelnen Unterheiten durch geeignete Verbindungen gestört wird, so
- 35

- 1 das entweder eine vollständige oder teilweise Zerlegung oder eine Labilisierung der Komplexe erfolgt, bzw. die Bildung der Komplexe oder der für die enzymatische Reaktion richtigen räumliche Struktur oder Konformation vollständig oder teilweise verhindert wird. Dies kann dadurch erreicht werden, daß Peptide oder peptidähnliche Verbindungen oder andere organisch-chemische Verbindungen angeboten werden, die Aminosäuresequenzen enthalten, oder von solchen abgeleitet sind oder mit solchen verwandt sind, die in den nativen Enzymen vorkommen und für den Zusammenhalt der für die Funktion nötigen Tertiär- und Quartärstruktur verantwortlich sind.

- 15 Dies gilt auch und vor allem in Hinsicht auf das aktive Zentrum der Enzymkomplexe, wo relativ kleine Störungen der Struktur bereits zur Inaktivierung des Enzyms führen können. Peptide mit Sequenzen der das aktive Zentrum bildenden oder dieses stabilisierenden Peptidketten (oder Verbindungen mit ähnlicher Struktur) sind daher besonders geeignet, die Aktivität des Enzyms zu hemmen, indem sie die Struktur stören oder die Bildung der korrekten räumlichen Enzymstruktur verhindern. Die hier einsetzbaren Verbindungen müssen selbst nicht symmetrisch sein, die Wirkung ist aber bei symmetrischen Enzymen besonders effektiv, da bei diesen mehrere identische Bindungsstellen vorhanden sind und die Wirkung sich daher je nach Anzahl der Untereinheiten im Komplex vervielfacht. Dieses Prinzip gilt auch für nichtsymmetrische, aber aus Untereinheiten zusammengesetzte Proteine.

- 30 Die Vorteile sind eine sehr spezifische Hemmung der Proteine (Enzyme bzw. Proteasen), da es die genauen strukturellen Eigenheiten der Zielproteine berücksichtigt und die Eigenschaft der Symmetrie für eine verstärkte Bindung der Hemmstoffe aufgrund der mindestens verdoppelten Bindungsfläche ausnützt.

35

- 1 Bei AIDS - wie auch bei anderen Krankheiten - sollte die hohe Spezifität und Bindungskraft der Inhibitoren eine relativ schonende Behandlung erlauben. Dies ist bei AIDS besonders wichtig, da dieses Krankheitserreger eine sehr schonende Behandlung benötigt, weil AIDS das Immunsystem schädigt und daher die Anfälligkeit des Körpers gegen Krankheiten aller Art drastisch zunimmt. Zum anderen wird gerade bei AIDS, das nicht kausal kuriert werden kann, da die Virus-Nukleinsäure in das Genom eingebaut wird, eine lebenslängliche Therapie und damit eine sehr schonende und spezifische Behandlung nötig sein.

- 15 Ein solches Mittel zeichnet sich insbesondere dadurch aus, daß das Peptid oder die peptidähnliche Struktur oder die andere organisch-chemische Verbindung eine zentrale organisch-chemische Gruppe aufweist, die der Einfachheit halber H genannt werden soll, an die als Seitenketten Reste X, Y, Z, R gebunden sind, welche organische Reste sein können, insbesondere Aminosäuren oder Aminosäurederivate oder Monosaccharide oder deren Derivate oder Pektinsäurereste oder ihre Derivate, insbesondere aber Peptide, die jeweils gleich oder annähernd gleich und in Bezug auf die Gruppe H symmetrisch oder annähernd symmetrisch sind, so daß sich insgesamt eine symmetrische oder annähernd oder teilweise symmetrische Verbindung ergibt. Der Begriff "Symmetrie" ist hier im üblichen Sinn der Stereochemie zu verstehen, bezieht sich bei Proteinen also immer auf eine Drehachse.

- 30 Somit können durch solche Hemmstoffe Proteine, insbesondere Enzyme gehemmt werden, wenn sie zumindest bezüglich des hemmbaren Molekülteils eine lokale Symmetrie besitzen. Dies sind z.B. Enzyme, die teilweise oder ganz aus gleichen Untereinheiten bestehen, obwohl sie zusätzliche Untereinheiten besitzen können. Neben HIV-Protease, von der dies bekannt ist, gibt es auch andere virale Proteine,

35

- 1 Membranproteine, Zytokine, Restriktionsenzyme und Multienzymkomplexe, deren Symmetrie entweder bekannt ist oder hinfolgend bestimmt werden kann.
- 5 Die symmetrischen Inhibitoren für die symmetrischen Proteine haben dieselbe Symmetrie wie die zu hemmenden Proteine und bestehen wie erwähnt aus einer zentralen Gruppe M und Seitenarmen, welche der Einfachheit halber im vorliegenden Fall nur mit x bezeichnet werden sollen, so daß sich eine Formel nach dem Schema
- $$M(x)_n$$
- ergibt, wobei n die Zähligkeit der Symmetrie des Proteins ist, z.B. $2 \times$ bei Proteinen mit 2-zähliger Achse, Symmetrie C_2 .
- 15 Wie erwähnt, können die Seitenarme bestehen aus Aminosäuren, Peptiden oder Derivaten oder anderen organisch-chemischen Verbindungen, wobei jedoch Peptide unter anderem den Vorteil haben, durch leichte, zum Teil automatisierte Synthese zugänglich zu sein. Im Prinzip sind jedoch z.B. auch Fettsäuren, Kohlenhydrate oder sogar anorganische Verbindungen als Seitenarme möglich, wenn sie für das spezielle Enzym passen. Bevorzugt werden vor allem kurze Peptide meist mit 2 bis 4 Aminosäuren pro Seitenarm verwendet.
- 25 Die beiden oder auch mehreren Arme müssen zueinander symmetrisch oder annähernd oder teilweise symmetrisch sein, in dem Sinne, daß die Symmetrie des zu hemmenden Proteins, z.B. eine 2-Zähligkeit, sich in dem Inhibitor wiederfindet. Im Beispiel der Dyado muß also beim Inhibitor durch Drehen um die zweizählige Achse ein Seitenarm in den anderen übergeführt werden können.
- 35

- 1 Dies kann z.B. auf folgende Weise erreicht werden:
- a) Wenn die Lauffrichtung der Peptidkette in den beiden Hälften verschieden ist, dergestalt, daß in einer Hälfte der NH-CO-Vektor zum Zentrum weist, in der anderen Hälfte vom Zentrum weg, dann muß in einer Hälfte durch Verwendung von Aminosäuren entgegengesetzter Chiralität (D statt L, bzw. umgekehrt) ein Ausgleich geschaffen werden. Der so entstandene Inhibitor ist dann bezüglich der Seitenketten noch annähernd symmetrisch, bezüglich der Peptidbindungen allerdings nicht. Dies genügt aber in aller Regel, daß der Hemmer für das zu hemmende Enzym noch hinreichend symmetrisch ist.
- 5 b) Wenn nicht alle Aminosäuren oder sonstige Reste des Inhibitors symmetrisch sind, sondern z.B. ein Tyrosin auf einer Seite durch ein Phenylalanin ergänzt wird, die restlichen Aminosäuren aber gleich und komplementär sind, ist immer noch mit einer hohen Hemmaktivität zu rechnen. Solche Hemmstoffe können sogar bezüglich der Löslichkeit, Membrangängigkeit und dergleichen günstiger sein als streng symmetrische Verbindungen. Für die Abweichung sind strukturelle und physikalisch-chemische Parameter wie Größe, Ladung, Hydrophilizität und dergleichen, maßgebend. So ist der Inhibitor
- 10 Phe-Thr-Ile-M-Leu-Ser-Tyr
- 25 Ala-Arg-Gly-M-Gly-Asp-Ala (ungleiche Ladung, Arg/Asp) oder Gly-Gly-Tyr-M-Gly-Gly (ungleiche Größe, Tyr/Gly), da der Unterschied, z.B. zwischen Thr einerseits und Ser andererseits geringer ist als zwischen Arg und Asp oder zwischen Tyr und Gly.
- 35

- 1 Kleine Abweichungen von der Symmetrie können daher prinzipiell geradezu von Vorteil sein. Es muß nur der Gewinn an Affinität durch die optimale Strukturangepassung (durch Symmetrieanpassung) noch groß genug für starke Bindung sein.
- 5

Die zentralen Gruppen haben die Aufgaben,

- a) die Symmetrie des Proteins auf den Hemmstoff zu übertragen,
- b) die für eine gute Bindung mit verantwortlichen Seitenarme im richtigen Abstand und Bindungswinkel zu halten, und
- 10 c) selbst durch gute Einpassung in das Protein, z.B. das aktive Zentrum eines Enzyms, zur guten Bindung des Hemmstoffes und damit zur Hemmung des Proteins beizutragen.
- 15

Die zentralen Gruppen müssen selbst nicht unbedingt symmetrisch sein, z.B. wenn die Seitenarme weitgehend für die Affinität verantwortlich sind. Die zentrale Gruppe kann chiral sein, z.B. Statin. Wichtig ist, daß die Vermittlung der Orientierung der Seitenarme und der richtigen Abstände optimal ist. Dies ist jedoch für den präparativen Chemiker in Kenntnis der Symmetrie oder eventuell sogar der genaueren Struktur des Enzyms kein Problem. Die Größe der zentralen Gruppe kann verschieden sein, ebenso ihre chemische Natur, so daß auch anorganische Gruppen wie $-PO_3H^-$ oder auch nur eine Bindung selbst als zentrale Gruppe gelten kann. Ein Strukturmerkmal des Substrats oder eines Übergangszustandes einer enzymatischen Reaktion durch den Hemmstoff kann wichtig sein.

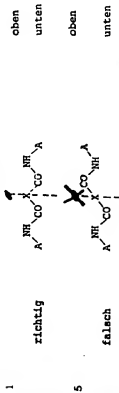
20

25

30

Ungeeignet sind zentrale Gruppen, wenn sie zwar die richtigen Seitenketten (entsprechende Reihenfolge und Chiralität der Aminosäuren) im richtigen Abstand anordnen, aber so, daß ein α m bezüglich der Richtung der Symmetrieachse falsch angeordnet ist, z.B. wenn "oben" und "unten" vertauscht sind.

35



Die folgenden Beispiele zeigen teilweise oder annähernd symmetrische Peptide, die zu einer Hemmung der HI-Viren in 89-Zellen führen.

BEISPIEL 1

- 15 A) H-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Thr-Gly-OH
- B) t-Boc-L-Leu-NH-CH₂-CHOH-CH₂-COOH
- C) CH₃-CO-Gly-Ala-Phe-Pro-Ile-Ala-OH
- D) CH₃-CO-Thr-Leu-Asn-NH-CH₂-CHOH-CH₂-NH-Asn-Leu-Thr-COOH₃
- 20 E) Ala-Asp-Thr-9-Naphthylamid
- F) CH₃-(CH₂CO-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Thr-Gly-OH)₂

Die Verbindungen (a), (b), (c), (d) wurden bei Molaritäten geteet, die von 0,1 μ M bis 1000 μ M reichten.

25 Inaktivitätsversuche wurden wie folgt durchgeführt: Eine HIV-1 Suspension mit einem Gehalt an 10⁵ infektiösen Einheiten wurde auf 5 x 10⁶ 89 Zellen in einem Volumen von 1 mm für eine Zeitspanne von 2 h bei 4°C absorbiert. Nach dieser Zeitspanne wurden 9 ml an Gewebekulturmedium, welches die geeignete Inhibitorkonzentration enthielt, zugegeben.

Das Medium wurde jeden Tag gegen frisches Medium plus Inhibitor ausgetauscht. Zwei Kontrollkulturen ohne Inhibitor wurden mitangestellt, eine, um den normalen Grad der Virusreplikation zu bestimmen sowie eine Kultur mit

35

- 1 Inhibitor ohne Virus, um zu bestimmen, ob diese Substanzen für H9 Zellen zytotoxisch sind. Es wurde kein zytotoxischer Effekt beobachtet wie sich durch das Anfräben der Zellen mit Trypsinlanau zeigte. Die Menge an Virusantigen, die von den infizierten Zellen erzeugt wurde, wurde täglich 8 Tage lang durch ELISA gemessen, wobei HIV-1 Antigen in GewebekulturmEDIUM bestimmt wird. Nach dieser Zeitspanne wurden die Zellen pelletisiert, in Medium ohne Inhibitor gewaschen und weiter in Medium ohne Inhibitor inkubiert. Die Antigenproduktion wurde am Tag 9 und 12 (d.h. 1 und 3 Tage nach Entfernung des Inhibitors) gemessen. An den Tagen 7, 8, 9 und 12 wurde die Virusproduktion auch durch Reverse Transkriptasebestimmung von Überständen des ZellkulturmEDIUMS gemessen.

15 Dabei ergab sich eine deutliche Hemmung der HIV 1 Replikation wie die beigefügten Tabellen 1 bis 5 für die Verbindungen (a) bis (d) zeigen.

- 20 Bei den folgenden Beispielen bedeuten R und R' Peptidreste, vorzugsweise solche bis maximal 9 Aminosäuren, insbesondere mit 2 bis 4 Aminosäuren, oder andere kurze organisch-chemische Reste, beispielsweise $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO-}$ mit $n = 1$ bis 10, $\text{CH}_3\text{CO-}$, H- , $-\text{NH}_2$, $-\text{NH-}$, $-\text{OR}$; X bedeutet kleine Aminosäurereste, wie GLY, ALA, SER, oder andere kleine Reste, A und B sind Aminosäuren oder andere organische Reste. Dies gilt für alle folgenden Beispiele, wenn nichts anderes angegeben ist.

30 BEISPIEL 2

R-(D)-Ser-(D)-Gln-(D)-Leu-(D)-Phe-(D)-Asn-(D)-Gln-OR'

35 Acetyl-(D)-Asp-(D)-Leu-(D)-Phe-(D)-Ile-(D)-Lys-NH₂

- 1 Acetyl-(D)-Ala-(D)-Val-(D)-Pro-(D)-Phe-(D)-Asn-(D)-Arg-NH₂
- 5 Acetyl-(D)-Gln-(D)-Val-(D)-Ile-(D)-Pro-(D)-Tyr-(D)-Asn-(D)-Gln-(D)-Arg-NH₂
- 10 Solche Verbindungen können bei sonst sehr substratähnlicher Struktur anstelle der spaltbaren -CONH-Peptidbindung eine nicht oder schwer spaltbare -NHCO-Bindung, also mit umgekehrter Richtung, besitzen, z.B. unter Verwendung des Retro-Inverso-Prinzips unter gleichzeitiger Umkehrung von Lauffrichtung der Sequenzen und der Konfiguration der Aminosäuren, z.B. nach den Formeln
- 15 (D)-A-NHCO-(D)-B-NHCO-(D)-C-NHCO-(D)-D-, anstelle eines natürlichen Substratpeptids der Formel (L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-(L)-D-, wobei die Paare D und A, bzw. C und B, symmetrisch sein oder wenigstens eine strukturelle Ähnlichkeit bezüglich Hydrophobizität, Ladung, Größe der Seitenketten etc.) zeigen sollen.

20 BEISPIEL 3

Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Gln-(D)-Leu-NH-CO-CH(C₂H₅)-CO-(L)-Gln-(L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

25 Acetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Asn-(L)-Leu-NH-CH₂-CH(C₂H₅)-CO-(D)-Asn-(D)-Gln-(D)-Leu-NH₂

30 Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Gln-NH-CH₂-CO-CH₂-CO-(L)-Gln-(L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

35 Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Asn-StatIn-(L)-Asn-(L)-Ala-(L)-Arg-NH₂

- 1 Acetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Gln-Statin-(D)-Gln-(D)-Ala-
(D)-Arg-OH
- 5 Fluoracetyl-(L)-Arg-(L)-Ala-(L)-Asn-Statin-(D)-Asn-(D)-Ala-
(D)-Arg-NH₂

Acetyl-(D)-Arg-(D)-Ala-(D)-Leu-Statin-(L)-Leu-(L)-Ala-
(L)-Arg-NH₂

- 10 Acetyl-(D)-Leu-(D)-Arg-(D)-Asn-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-CO-
(L)-Asn-(L)-Arg-(L)-Leu-NH₂

In den verwendeten Verbindungen kann ein Teil der
Peptidkette aus Aminosäureresten einer räumlichen
Konfiguration bestehen, während die andere Hälfte aus
15 Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration besteht,
dargestellt, daß eine symmetrische oder annähernd
symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung
entsteht, z.B. entsprechend des in den Formeln
20 (L)-C-(L)-B-(L)-A-(D)-A-(D)-B-(D)-C
oder
(D)-C-(D)-B-(D)-A-(L)-A-(L)-B-(L)-C

ausgedrückten Prinzips, wobei A, B, C Aminosäurereste
darstellen. Hierbei ist darauf zu achten, daß durch Einfügen
25 einer geeigneten zentralen Gruppe X (in Zentrum) das auf
Seite 8 unten dargelegte Prinzip gewahrt ist.

Auch hier ist bei Hemmung für Protease die Enzymhemmung
dadurch zu erreichen, daß die Enzymhemmer anstelle der
30 spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung
besitzen, wie dies etwa bei Beispiel 7 erläutert ist,

sowie daß in den verwendeten Verbindungen an eine
nichtsammymetrische zentrale organisch-chemische Gruppe zwei.

35

- 1 Statinreste oder zwei verwandte Verbindungen so angeheftet
werden, daß insgesamt eine räumlich-symmetrische oder
annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische
Gesamtverbindung entsteht, wie dies auch für Beispiel 4
5 erläutert ist,

und daß in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale
organisch-chemische Gruppe mit zwei gleichen Substituenten
zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher
10 oder annähernd gleicher und sich entsprechender
Aminosäuresequenz und gleicher Konfiguration bzw.
Chiralität, aber mit umgekehrter Laufrichtung der
Peptidbindungen so angeheftet werden, daß insgesamt eine
räumlich-symmetrische oder annähernd symmetrische oder
15 teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, wie dies
auch für Beispiel 7 gezeigt ist,

ferner, daß wie auch in Beispiel 8 gezeigt, in den
verwendeten Verbindungen an eine zentrale

20 organisch-chemische Gruppe mit zwei unterschiedlichen
Substituenten zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen
mit gleicher oder annähernd gleicher und sich entsprechender
Aminosäuresequenz mit gleicher Laufrichtung der
Peptidbindungen, aber mit umgekehrter Chiralität der
25 Aminosäuren so angeheftet werden, daß insgesamt eine
räumlich-symmetrische oder annähernd oder teilweise
symmetrische Gesamtverbindung entsteht,

und schließlich, daß in den verwendeten Verbindungen an eine
30 symmetrische oder teilweise symmetrische oder annähernd
symmetrische Verbindung chemisch reaktive Reste, z.B.
entsprechend den Formeln $\text{CH}_3\text{CO}-$, $\text{N-CHCO}-$, $\text{NC-CH}_2\text{-CO}-$,
 $\text{RO}_2\text{-C-CH}_2\text{-CH}_2-$, $\text{RO}_2\text{-S-}$, HS- , $\text{ROH}_2\text{N}_2\text{C-}$ so

35 angeheftet werden, daß die Verbindungen von Zielenzym
reversibel oder irreversibel gebunden werden können. Hier

-14-

- 1 bedeutet X Halogen, R ist ein Esterrest mit 1 bis 12 Kohlenstoffatomen, aber vorzugsweise ein C_1-C_3 -Rest, oder ein Phenyl- oder Benzylrest und n = 1 bis 3.

5 BEISPIEL 4

R-Stat-in-X-Stat-in-R' oder

- 10 CH_3CO -Stat-in-X-Stat-in- NH_2 oder

Isovaleryl-Ser-Ser-Stat-in-Ala-Stat-in- NH_2 oderAcetyl-Ser-Stat-in-Gly-Stat-in- NH_2 oder

- 15 Acetyl-Stat-in-Ala-Stat-in- NH_2 oder

Fluoroacetyl-Stat-in-Ala-Stat-in- NH_2 oder

- 20 Acetyl-Stat-in-Ala-Stat-in-NH-CO- CH_2 -CN;

ferner: Kombinationen von (3S,4S)-, (3R,4R)-, (3R,4S) und (3S,4R)-Stat-in in obiger oder ähnlicher Weise;

- 25 ferner: Modifizierung von R entsprechend der Sequenz von Penstatin A, den Bindungssequenzen in typischen Substraten von H⁺-protease, etc..

In den verwendeten Verbindungen sind an eine nichtsymmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe zwei Statinreste oder zwei verwandte Verbindungen so angeheftet, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.

35

-15-

1 BEISPIEL 5

R-Asp-Thr-Gly-R' oder

- 5 R-Asp-Ser-Gly-R' oder

R-A-Asp-Thr-Gly-B-R' oder

- 10 Acetyl-Ile-Asp-Thr-Gly-Ala- NH_2 oder

Isovaleryl-Ile-Asp-Ser-Gly-Ala-NH-(CH_2)₃- CH_3 oderAcetyl-Asp-Thr-Gly-Ala- NH_2

- 15 Chloroacetyl-Asp-Thr-Gly-Ala- NH_2

Acetyl-Ile-Gly-Alg-Aan- NH_2

- 20 Acetyl-Ile-Gly-Alg-Aan-Ile- NH_2

Die verwendeten Verbindungen enthalten die Aminosäuresequenz Asp-Thr-Gly oder Asp-Ser-Gly oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche

- 25 organisch-chemische Reste, die im Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrums aus gleichen oder entstehenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung verhindern können.

BEISPIEL 6

Acetyl-Thr-Lau-Trp-Gln-Alg-Pro-Lau-Val- NH_2 oder

35

- 1 Fluoroacetyl-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-NH₂ oder Isovaleryl-Trp-Gln-Arg-Pro-NH₂ oder
- 5 H-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-NH₂ oder ähnliche Verbindungen
- Die verwendeten Verbindungen enthalten im Falle der HIV-Protease als Zielenzym die Aminosäuresequenz Thr-Leu-Trp-Gln-Arg-Pro-Leu-Val oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste oder Teile daraus, die für die Assoziation der Untereinheiten der HIV-Protease und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern oder ihre Bildung verhindern können.
- 15

BEISPIEL 7

- 20 Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-(CH₂)₃-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl
- Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-O-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl
- 25 Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-CHOH-CH₂-NH-Asn-Leu-Arg-Acetyl
- Acetyl-Arg-Leu-Asn-NH-CH₂-NH-CH₂-NCH₃-Asn-Leu-Arg-Acetyl
- 30 H-(D)-Leu-(D)-Leu-(D)-Asn-NH-CHP-CO-CHP-NH-(D)-Asn-(D)-Leu-(D)-Arg-H

Bei den verwendeten Verbindungen wird im Falle von Proteinase als Zielenzym die Enzymhemmung dadurch erreicht, daß sie anstelle der apaltbaren Peptidbindungen eine nichtapaltbare Bindung besitzen, z.B. nach den Formeln

35

- 1 -S-S-, -S-, -O-,
-CO-CH₂-CH(OH)-CH₂-CO-, -NR-NR'-,
-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-NH-, -NH-CF₂-CO-CH₂-NH-,
-NH-CF₂-CO-CF₂-NH-, -CO-CH₂³,
5 -NH-(CH₂)₃-NH-, -CO-CH₂-O-CH₂-CO-, -N(R)-, -NR-,
-P(O)(OH)-, -CO-CH₂-CO-,
-NH-CH₂-O-CH₂-NH-, -CO-CH₂-NH-CH₂-CO-,
-N(C₂H₅)₁-CF₂-CO-CF₂-N(C₂H₅)₁-,
-N(C₂H₅)₁-CH₂-CH(OH)-CH₂-N(C₂H₅)₁-,
10 -(2S,3S)-NH-CH(CH₂C₆H₁₁)-CH(OH)-CH₂-NH-,
oder ähnliche Verbindungen, wobei R und R' Wasserstoff oder Aryl- oder Alkylreste bis C₁₂ bedeuten und n die Zahl 1 oder 2 bedeutet.

15 In den verwendeten Verbindungen werden an eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei gleichen Substituenten zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit gleicher oder annähernd gleicher oder sich entgegenstehender Aminosäuresequenz und gleicher Konfiguration, aber mit umgekehrter Laufrichtung so angeheftet, daß insgesamt eine kumulativ symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B.

entsprechend den Formeln

25 (L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A oder

(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C oder

(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C-CONH-NHCO-(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A oder

30 (L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-CONH-(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(L)-C oder

(L)-A-CONH-(D)-B-CONH-(L)-C-CONH-M-NHCO-(L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A oder

35 (L)-C-NHCO-(L)-B-NHCO-(L)-A-NHCO-M-CONH-(L)-A-CONH-(L)-B-CONH-(D)-C oder

-20-

- 1 H-(L)-Arg-(L)-Ile-(L)-Asn-NH-CH₂-CO-(D)-Gln-(D)-Leu-(D)-Arg-OH
- 5 H-Ala-Ala-Stat-in-(D)-Val-(D)-Val-OCH₃
- 10 Zusätzlich zu den in den beiden vorhergehenden Beispielen angegebenen Möglichkeiten können hier in den verwendeten Verbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe zwei Peptide oder peptidähnliche Verbindungen mit unterschiedlichen Aminosäuresequenzen, aber mit ähnlicher bzw. entsprechender Verteilung von Resten mit gleicher elektrischer Ladung oder gleicher oder ähnlicher Hydrophobizität oder Hydrophilizität oder Größe der Seitenketten oder einer anderen physikalisch-chemischen Eigenschaft so eingebaut werden, daß insgesamt eine räumlich annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln
- 15 (L)-C-(L)-A⁺-CONH-H-CO-NH-(D)-B⁺-(D)-C, oder (L)-C-(L)-A⁺-CONH-H-HICO-(L)-B⁺-(L)-C, oder (L)-C-(L)-A⁺-CONH-H-CO-NH-(D)-B⁺-(D)-B, oder (L)-C-(L)-A⁺-CONH-H-CO-NH-(D)-B⁺-(L)-C, oder (L)-D-(L)-A⁺-CONH-H-HICO-(L)-B⁺-(L)-C, oder (L)-C-(L)-A⁺-CONH-H-CO-NH-(D)-B⁺-(L)-C, oder (L)-C-(L)-A⁺-CONH-HICO-(L)-B⁺-(L)-C, oder (L)-C-(L)-A⁺-HICO-CO-NH-(D)-B⁺-(D)-B, wobei A⁺, B⁺ = zwei verschiedene Aminosäurereste mit gleicher Ladung, H eine zentrale organisch-chemische Gruppe und AX, BX zwei verschiedene Aminosäuren mit vergleichbarer großen hydrophoben oder hydrophilen Seitenketten sind.
- 30 Abschließend seien noch einige Beispiele für zentrale Gruppen (N), für Seitenketten sowie für ganze Inhibitoren gezeigt:

35

-21-

- 1 Beispiele für Zentrale Gruppen:
- NH-CH(OH)-CH(OH)-NH-, -O-, Stat-in,
-NH-CH(CH₂-C₆H₁₁)-CH(OH)-CH₂-NH-,
5 -NH-CH(CH₂-C₆H₁₁)-CO-CH(C₆H₅)-NH-,
-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-NH-,
(1S,3S)-NH-CH(Cyclohexylmethyl)-CO-CH(Cyclohexylmethyl)-NH-, 2-Alkylstat-in, -CH₂, Ethylenepoxid, Thiophen,
- 10 Beispiele für Seitenketten:
- Ac-Ser-Gln-Asn-Tyr-, H-His-Pro-His-Tyr-,
Ac-Arg-Ser-Gln-His-Cha-, H-Ala-Ala-
- 15 Beispiele für ganze Inhibitoren:
- Ac-His-Pro-His-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-NH-His-Gln-Ser-Arg-
tBoc, (R-CH₂-CH(CH₃)₂)-CH₂-C₆H₁₁ etc.)
20 H-His-Pro-His-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-NH-His-Pro-His-H
(R-CH₂-C₆H₁₁ etc.)
Ac-His-Pro-His-NH-CH₂-CH(OH)-CH₂-CO-NH-D-His-D-Gln-OCH₃
(R-CH₂-C₆H₁₁ etc.)
25 Ac-Arg-Ser-Gln-Asn-
-NH-CH(CH₂-C₆H₁₁)-CO-CH(CH₂-C₆H₁₁)-NH-
-Asn-Gln-Ser-Arg-Ac
(Zentrale Gruppe: 1S,3S; statt CO auch -CH(OH)-, -CO-CO-,
-CH(OH)-CH(OH)-, Puzan, Ethylenepoxid etc.)
- 30 tBoc-His-Pro-Phe-His-Ileu-Stat-in-D-His-D-Phe-D-Pro-D-His- tBoc
- 35

- 1 Ein Verfahren zur Inhibierung von Proteasen, z.B. HIV-Protease durch bestimmte Peptide besteht, kurz skizziert, darin, daß man
- 5 1. die Symmetrie des zu hemmenden Enzyms bestimmt, 2. die Sequenz eines guten Substrats oder eines hemmenden Peptids ausfindet und 3. die dem Symmetriezentrum am nächsten liegenden Aminosäuren feststellt,
- 10 4. ein solches, die Bindung vermittelndes Peptid an diesen Aminosäuren durch chemische Synthese so mittels einer zentralen Gruppe verknüpft, daß ein hinreichend symmetrisches Peptid entsteht,
- 15 5. wobei man eine solche zentrale Gruppe wählt, daß die sich entsprechenden Aminosäuren im richtigen Abstand zu Mitte stehen,
- 20 6. mittels Computer aided molecular design die gute Paßform überprüft und die genaue Einhaltung der Symmetrie im Inhibitor feststellt und 7. die Hemmaktivität überprüft, insbesondere wenn die Strukturkoordinaten nicht bekannt sind. In diesem Fall wird die Sequenz der Seitenarme und die Struktur der zentralen Gruppe durch trial and error über die Hemmaktivität optimiert.
- 25 Die chemische Herstellung solcher Verbindungen ist an sich bekannt, ebenso ist die Verabreichung der Verbindungen an sich bekannt, so daß der Fachmann hier auf übliche und wohlbekannte Arbeitsweisen zurückgreifen kann.
- 30 Abschließend seien noch einige bevorzugte Ausführungsformen hinsichtlich Hemmverbindungen angegeben:
- 35 Die verwendeten Verbindungen bestehen vorzugsweise aus Peptiden oder peptidanalogen Strukturen oder aus

- 1 Verbindungen, welche Peptide oder peptidnaloge Strukturen enthalten oder von solchen Strukturen abgeleitet Verbindungen bestehen, wobei z.B.
- 5 folgende symmetrische oder teilweise symmetrische Verbindungen in Betracht gezogen werden:
 $X-Y-Z-M-Z-Y-X$, $Z-M-Z$, $X-Y-Z-Z-Y-X$, $X-Y-Z-M-Z-Y$,
 $X-U-Y-X-Z-Z-X-Y-X$, $Z-Y-Y-R$, $R-U-X-Y-Z-M-Z$, oder auch nur M , wobei X, Y, Z, U, R organische Reste, insbesondere Aminosäuren oder Derivate davon, Monosaccharide oder Derivate, Fettsäureester oder Derivate, sind, M die zentrale organisch-chemische Gruppe darstellt und die beiden Strukturen Y , die zu beiden Seiten der zentralen Gruppe stehen, strukturell oder in ihren physikalisch-chemischen
- 10 Eigenschaften ähnliche Verbindungen sind, was zusätzlich oder stattdessen auch für die anderen genannten Gruppen X , Z , U oder R gelten kann. Bei guter Passung kann eine symmetrische oder fast symmetrische Gruppe M zur Hemmung ausreichen, z.B. ein Dipeptidanalogen, wie es auf Seite 20, Zeile 18-20 für die Gruppe M von -NH-... bis ...-NH- gezeigt ist.
- 20 Die Voraussetzung zur Bindung der verwendeten Verbindungen an das Zielenzym kann z.B. dadurch geschaffen werden, daß in ihnen typische Spaltequenzen oder Bindungssequenzen der natürlichen Substrate oder mit ihnen verwendeten Strukturen oder Strukturen dieser Art verwendet werden, die so modifiziert wurden, daß sie dem Zielenzym nicht mehr als Substrat dienen und als Inhibitoren wirken. In den
- 25 verwendeten Verbindungen können die Voraussetzungen zur Hemmung der Zielenzyme auch dadurch erreicht werden, daß Substrate oder substratähnliche Verbindungen so modifiziert werden, daß sie anstelle der enzymatisch veränderbaren Stellen nicht mehr veränderbare Stellen tragen und daher als Inhibitoren wirken.
- 30
- 35

- 1 Eine bevorzugte Gruppe von Hemmverbindungen im Falle von Proteinasen als Zielenzym haben anstelle der spaltbaren Peptidbindungen ein Dipeptidanalogen mit reduzierter Peptidbindung oder eine andere ähnliche Verbindung mit nichtspaltbarer Bindung und gleicher oder ähnlicher Länge wie ein Dipeptid und wirken so für das Zielenzym als Inhibitoren. Die verwendeten Verbindungen können im Falle von Proteinasen als Zielenzym anstelle der spaltbaren Peptidbindung Statin oder ein Derivat des Statins oder eine verwandte oder ähnliche, nichtspaltbare Verbindung mit gleicher oder ähnlicher Länge wie ein Dipeptid besitzen. Sie können aber auch im Falle von Proteinasen als Zielenzym anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine phosphorhaltige nichtspaltbare Verbindung mit gleicher oder ähnlicher Länge wie ein Dipeptid besitzen, wie z.B. Phosphonsäureamide.
- 15 Statin und ähnliche Dipeptidanaloga stellen selbst bereits annähernd symmetrische Verbindungen dar (Symmetrie nahe am -OH).
- 20 Bei Proteinasen als Zielenzym kann in den Hemmverbindungen durch Einführung einer längeren Aminosäure oder einer anderen organisch-chemischen Gruppe die Stelle der spaltbaren Peptidbindung im Vergleich zu der Lage der Spaltstelle in einem guten Substrat räumlich verschoben werden, wodurch die Verbindung für das Zielenzym als Inhibitor wirkt. Es kann z.B. in den verwendeten Verbindungen die Stelle der spaltbaren Peptidbindungen durch Einführung von Statin oder einer verwandten organisch-chemischen Gruppe oder einer anderen Gruppe im Vergleich zu der Bindungslage eines guten Substrats räumlich verschoben werden.
- 30 In den verwendeten Verbindungen kann die Symmetrie oder teilweise Symmetrie der Verbindungen dadurch erreicht werden, daß in den Verbindungen zentrale organisch-chemische
- 35

- 1 Gruppen vorhanden sind, die als Zentren der Symmetrie oder der annähernden Symmetrie wirken, oder die verwendeten Verbindungen besitzen zentrale organisch-chemische Gruppen mit zwei identischen oder in ihrer Funktion äquivalenten organischen Substituenten, die mit zwei identischen oder teilweise identischen Peptiden oder peptidähnlichen Verbindungen so reagieren können, daß eine symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. entsprechend den Formeln
- 10 C-CONH-B-CONH-A-CONH-M-NICO-M-NICO-A-NICO-B-NICO-C oder C-NICO-B-CHCO-A-NICO-M-CONH-A-CONH-B-CONH-C, wobei A, B, C Aminosäurereste und M eine zentrale organisch-chemische Gruppe darstellen. Die verwendeten Verbindungen können eine symmetrische oder annähernd symmetrische zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei identischen oder in ihrer Funktion äquivalenten organischen Substituenten besitzen, die in der Länge mindestens einem Dipeptid entsprechen und mit Peptiden oder peptidähnlichen Verbindungen so reagieren können, daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht. Falls das oben erwähnte Formelbeispiel (...-NH-M-NH-...) einem guten Inhibitor entspricht, muß im zweiten Beispiel (...-CO-M-CO-...) die Chiralität der verwendeten gleichen Aminosäuren (A,B,C) umgekehrt werden ("D"-Formen), um eine ähnliche gute Fassung und damit Hemmung zu erreichen.
- 20
- 25 Für den Fall einer zentralen organisch-chemischen Gruppe mit zwei ungleichen Substituenten, an die zwei gleiche oder annähernd gleiche oder sich entsprechende Peptide oder peptidähnliche Verbindungen angehängt sind, seien als Beispiele die Formeln
- 30 C-CONH-B-CONH-A-CONH-M-CONH-N-CONH-B-CONH-C oder
- 35

- 1 C-NICO-B-NICO-A-NICO-H-NICO-C-NICO-B-NICO-C genannt, wobei A, B, C Aminosäurereste und H die zentrale organisch-chemische Gruppe sind. Die symmetrische Sequenzanordnung allein reicht im allgemeinen nicht aus für die Konstitution eines hinreichend "symmetrischen" Inhibitors, wie nachstehend noch erläutert wird (s.ä. Seite 8).
- 5 Die verwendeten Verbindungen können auch zwei Statinreste mit oder ohne Zwischengruppen enthalten, so daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, wobei die verwendeten Verbindungen zwei Statinreste mit entgegengesetzter Konfiguration oder zwei entsprechend verwandte Verbindungen mit oder ohne Zwischengruppen enthalten können.
- 15 Die verwendeten Verbindungen können zwei Statinreste oder zwei entsprechend verwandte Verbindungen mit oder ohne Zwischengruppen enthalten, wobei einer der Statinreste eindeutig ist, um die freie Drehbarkeit der Bindungen zu gewährleisten, so daß die Einnahme einer räumlich symmetrischen oder annähernd symmetrischen oder teilweise symmetrischen Konformation der Gesamtverbindung erleichtert wird.
- 25 Wenn in den verwendeten Verbindungen wie im Normalfall ein Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer einzigen räumlichen Konfiguration (z.B. L-Form) besteht, muß die andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration bestehen, um einen hinreichend symmetrischen Inhibitor zu erzeugen. Hier sind folgende Beispiele bevorzugt:
- 30 (L)-C-(L)-B-(L)-A-(D)-A-(D)-B-(D)-C oder (D)-C-(D)-B-(D)-A-(L)-A-(L)-B-(L)-C wobei A,B,C Aminosäurereste darstellen.
- 35

- 1 In den verwendeten Verbindungen kann an ein Peptid oder an eine peptidähnliche Verbindung ein Nichtpeptidrest so gebunden werden, daß eine annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. in bezug auf eine oder mehrere physikalisch-chemische Eigenschaften wie Ladung, Hydrophilizität, Hydrophobizität oder "Größe der Seitenkette bzw. des Restes, oder in den verwendeten Verbindungen ist an ein Peptid oder an eine peptidähnliche Verbindung oder an ein Peptid mit einer zentralen organisch-chemischen Gruppe eine Seitenkette oder ein Nichtpeptidrest so gebunden, z.B. entsprechend den Formeln B-A-M-A-R oder R-B-A-M-A oder R-C-B-A-B-A oder B-A-M-R,
- 5 wobei A,B,C,D, Aminosäurereste, M eine zentrale organisch-chemische Gruppe und R einen organischen Rest darstellt, dergestalt, daß insgesamt eine räumlich annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht, z.B. in bezug auf eine oder mehrere physikalisch-chemische Eigenschaften, wie Ladung, Hydrophilizität, Hydrophobizität oder Größe der Seitenkette bzw. des Restes.
- 15 Es können aber an ein symmetrisches oder teilweise symmetrisches oder annähernd symmetrisches Peptid oder eine peptidähnliche Verbindung chemisch reaktive Reste, z.B. entsprechend den Formeln $\text{XCH}_2\text{CO}-$, $\text{R}_2\text{CHCO}-$, $\text{NC-CH}_2\text{-CO-}$, RO-C- , $\text{CH}_3\text{-CR-}$, RO-S- , HS- , $\text{RO(R}_2\text{N)}\text{C-}$, so gebunden sein, daß die Verbindungen von Zielenzym reversibel oder irreversibel gebunden werden können. Auch hier bedeutet n die Zahl 1 oder 2 und R ist ein üblicher Esterrest, wie schon früher angegeben.
- 25 Die verwendeten Verbindungen können auch Aminosäuresequenzen der Enzyme oder Proteine enthalten, die für die Assoziation ihrer Untereinheiten oder Teilstrukturen oder die Stabilität oder strukturelle Anordnung der funktionierenden Enzyme und Proteine mitverantwortlich sind, oder verwandte oder
- 30
- 35

- 1 Ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste besitzen, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzyme oder Proteine beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität oder ihre Funktion beeinträchtigen oder ihre Bildung verändern können. Hierbei können die verwendeten Verbindungen Aminosäuresequenzen oder Verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste der HIV-Protease enthalten, die für die Assoziation der Untereinheiten des Enzyms und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern oder ihre Bildung verhindern können.
- 15 Die verwendeten Verbindungen können vorzugsweise die Aminosäuresequenz $\text{Trp-Lys-Pro-Lys-Met-Ile-Gly-Ile-Gly-Gly-Phe-Ile-Lys-Val-Arg; Glu-Ile-Lau-Ile-Glu-Cys; Val-Gly-Pro-Thr-Pro-Val-Asn; Ile-Gly-Arg-Asn; Ala-Gly-Arg-Asn-Lau-Lau-Thr-Glu-Ile}$ oder Verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste oder Teile daraus enthalten, die für die Assoziation der Untereinheiten der HIV-Protease und die Bildung oder den Zusammenhalt des funktionierenden Enzymkomplexes mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder Stabilität der Enzymkomplexe beeinträchtigen oder ihre enzymatische Aktivität verringern oder ihre Bildung verhindern können.
- 20
- 25
- 30 Auf diese Weise kann also Struktur und/oder die Wirkung von Enzymen, die eine gewisse Symmetrie haben, indem sie aus gleichen oder ungleichen Untereinheiten bestehen, insbesondere von Enzymen von pathogenen Bakterien oder Viren
- 35

- 1 oder von körpereigenen Enzymen in pathologischen Zuständen, durch stabile organisch-chemische Verbindungen gehemmt werden, was zur Therapie dienen kann, wenn die verwendeten Verbindungen Aminosäuresequenzen der strukturell unsymmetrischen komplexen Zielenzyme oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste enthalten, die für die Assoziation der Untereinheiten der Enzyme und die Bildung und den Zusammenhang der funktionierenden Enzymkomplexe mitverantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Bildung oder den Zusammenhalt oder die Stabilität der Enzymkomplexe stören und ihre Aktivität beeinträchtigen oder verhindern können.
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35

ERSATZBLATT

Day post infection	A 1000 µM				B 1000 µM				C 1000 µM				D 1000 µM - Not tested			
	HIV Control 1	HIV Control 2	155540	166620	104660	142240	117910	163130	137470	149020	6575	8474	6180	106830	104660	142240
35	12401	4183	1529	2121	1550	12893	12517	9502	14455	5503	6575	8474	6180	106830	104660	142240
30	12401	23708	30094	13680	18921	12893	12517	9502	14455	5503	6575	8474	6180	106830	104660	142240
25	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
20	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
15	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
10	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
5	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
1	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8

Reverse Transcriptase Determination (cpm/ml)

WO 90/0191

PCT/EPW/00219

-30-

ERSATZBLATT

Day post infection	A 1000 µM				B 1000 µM				C 1000 µM				D 1000 µM - Not tested			
	HIV Control 1	HIV Control 2	155540	166620	104660	142240	117910	163130	137470	149020	6575	8474	6180	106830	104660	142240
35	12401	4183	1529	2121	1550	12893	12517	9502	14455	5503	6575	8474	6180	106830	104660	142240
30	12401	23708	30094	13680	18921	12893	12517	9502	14455	5503	6575	8474	6180	106830	104660	142240
25	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	142240
20	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	142240
15	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	142240
10	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	142240
5	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	142240
1	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	142240

no inhibitor

WO 90/0191

PCT/EPW/00219

-31-

-12-

1

6

10

15

20

25

30

35

Day post infection	7	8	9	no inhibitor	12
HIV Control 1	12401	23708	18921		15540
HIV Control 2	4183	30094	13880		168620
A 1000 uM	3344	5760	9748		151010
1 uM	4537	5209	10344		97040
10 uM	4377	5209	10344		133830
0.1 uM	3155	1863	5290		133830
	5487	982	2994		149330
B 1000 uM	4859	5194	3874		129790
100 uM	4859	5194	6656		129730
10 uM	4854	8069	6656		129730
1 uM	2955	7606	3925		122840
0.1 uM	3328	5959	4279		93946

Conclusion: All substances tested showed a significant inhibitory effect on HIV-1 replication as measured by total antigen production or by reverse transcriptase release of released virus. This effect was reversible as virus production quickly returned to control levels after removal of inhibitor from infected cells.

-11-

1

5

10

15

20

25

30

35

Results: HIV-1 antigen production as measured in antigen capture ELISA, values are O. D. H 9 cells readings.

Day post infection	1	2	3	4	5	6	7	8	9	no inhibitor	12
HIV Control 1	0.075	0.059	0.068	0.059	0.080	0.182	0.811	0.748	1.052	1.017	
HIV Control 2	0.074	0.062	0.063	0.059	0.053	0.115	0.498	0.688	1.038	1.048	
A 1000 uM	0.087	0.058	0.073	0.054	0.056	0.102	0.286	0.597	0.899	1.034	
1 uM	0.068	0.064	0.065	0.053	0.057	0.070	0.361	0.374	0.915	1.013	
10 uM	0.064	0.060	0.075	0.054	0.054	0.140	0.258	0.499	0.727	1.003	
0.1 uM	0.060	0.066	0.062	0.055	0.058	0.181	0.363	0.478	0.737	1.052	
B 1000 uM	0.076	0.068	0.050	0.050	0.063	0.075	0.279	0.577	0.811	1.050	
100 uM	0.063	0.060	0.063	0.052	0.052	0.099	0.359	0.260	0.890	0.960	
10 uM	0.063	0.060	0.063	0.050	0.052	0.105	0.337	0.365	0.938	1.038	
1 uM	0.061	0.060	0.061	0.050	0.052	0.186	0.389	0.332	0.745	1.040	
0.1 uM	0.061	0.063	0.039	0.063	0.055	0.149	0.389	0.232	0.700	1.047	
C 1000 uM	0.071	0.053	0.061	0.057	0.123	0.096	0.415	0.778	1.019	1.000	
100 uM	0.064	0.056	0.062	0.057	0.123	0.096	0.415	0.778	1.019	1.000	
10 uM	0.069	0.048	0.064	0.064	0.049	0.098	0.228	0.292	0.643	1.040	
1 uM	0.061	0.054	0.060	0.050	0.051	0.133	0.267	0.239	0.808	1.042	
0.1 uM	0.062	0.069	0.055	0.052	0.054	0.105	0.276	0.336	0.588	1.010	

ERSATZBLATT

ERSATZBLATT

[illegible]

1 Patentansprüche

1. Mittel zur Hemmung von symmetrischen Proteinen, insbesondere Enzymen, insbesondere zur Inhibition der HIV-Protease, in Form von strukturell symmetrisch oder fast symmetrisch gebauten Enzyminhibitoren, dadurch gekennzeichnet, daß diese Enzyminhibitoren solche sind, deren Molekül in bezug auf das zu hemmende Enzymmolekül strukturell gleich-symmetrisch oder teilweise oder annähernd, jedoch zur Hemmung hinreichend, symmetrisch ist.

2. Mittel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Inhibitoren organisch-chemische Verbindungen, insbesondere Peptide sind oder peptidähnliche Struktur haben und eine zentrale organisch-chemische Gruppe M aufweisen, an die als Seitenketten organische Reste gebunden sind, insbesondere Aminosäuren oder Aminosäurederivate, Monosaccharide oder deren Derivate oder Fettäureester oder ihre Derivate, insbesondere Peptide, die jeweils gleich oder annähernd gleich und in bezug auf die Gruppe M symmetrisch oder annähernd symmetrisch sind.

3. Mittel nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß für die Hemmung von Proteinen die Hemmverbindungen anstelle der spaltbaren Peptidbindungen eine nichtspaltbare Bindung besitzen.

4. Mittel nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Hemmverbindungen bei sonst sehr substratähnlicher Struktur anstelle der spaltbaren -COOH-Peptidbindung eine nicht oder schwerspaltbare -NICO-Bindung (also mit ungekehrter Richtung) besitzen.

- 1 5. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Hemmverbindungen zentrale organisch-chemische Gruppen besitzen, die zwei identische oder in ihrer Funktion äquivalente organische Substituenten aufweisen, die mit zwei identischen oder teilweise identischen Peptiden oder peptidähnlichen Verbindungen oder Fettsäuren bis C₁₂ so reagieren können, daß eine symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.
- 10 6. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in den Hemmverbindungen an eine zentrale organisch-chemische Gruppe mit zwei ungleichen Substituenten zwei gleiche oder annähernd gleiche oder sich entsprechende Peptide oder peptidähnliche Verbindungen so gebunden sind, daß insgesamt eine räumlich symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung entsteht.
- 15 7. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß in den verwendeten Hemmverbindungen ein Teil der Peptidkette aus Aminosäureresten einer räumlichen Konfiguration besteht, während die andere Hälfte aus Aminosäuren der umgekehrten Konfiguration besteht, so daß eine symmetrische oder annähernd symmetrische oder teilweise symmetrische Gesamtverbindung vorliegt.
- 20 8. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die verwendeten Hemmverbindungen im Falle der HIV-Protease die Aminosäuresequenz Asp-Thr-Gly oder Asp-Ser-Gly oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste
- 25 30 35

- 1 enthalten, die in Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrums aus gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung des aktiven Enzyms verhindern können.
- 5 9. Mittel nach einem oder mehreren der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die verwendeten Hemmverbindungen im Falle der HIV-Protease die Aminosäuresequenzen Ile-Gly-Arg-Asn, Trp-Lys-Pro-Lys-Met-Ile-Gly-Gly-Ile-Gly-Gly-Phe-Ile-Lys-Val-Arg; Glu-Ile-Leu-Ile-Glu-Cys; Val-Gly-Pro-Thr-Pro-Val-Asn; Ile-Gly-Arg-Asn; Ala-Gly-Arg-Asn-Leu-Leu-Thr-Glu-Ile oder verwandte oder ähnliche Aminosäuresequenzen oder strukturell ähnliche organisch-chemische Reste enthalten, die in Zielenzym zur Bildung eines funktionellen aktiven Zentrums aus gleichen oder entsprechenden Teilen verschiedener Untereinheiten der komplexen Enzyme beitragen oder verantwortlich sind, so daß die Verbindungen die Struktur oder die Stabilität des aktiven Zentrums beeinträchtigen oder die Bildung des aktiven Enzyms verhindern können.
- 10 15 20 25 30 35

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationale Abgrenzung PCT/EP 90/00219

1. KLASSEMENT DER ANMELDUNGSGEGENSTÄNDE Nach dem internationalen Patentklassifizierungssystem (IPC) oder nach dem nationalen Klassifizierungssystem und der PCT

Int.Cl.⁵ A 61 K 37/64, C 07 K 5/02, 7/02

2. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Chemische Verbindungen

Pharmazeutische Mittel (Pharmazeutika)

Chemische Verbindungen

Int.Cl.⁵ A 61 K, C 07 K

Rechtswesen nicht zum Klageverfahren gehörende Verfahrenspraktiken, soweit diese unter die rechtsverwaltenden Verfahren fallen

III. EINZELNE VERÖFFENTLICHUNGEN

Zur Kennzeichnung der Veröffentlichung "I" steht entweder unter Angabe der maßgebenden Seite 13

A The Journal of Biological Chemistry, Band 263, Nr. 24, 5. Dezember 1988

S. Billich et al.: "Synthetic peptides as substrates and inhibitors of human immune deficiency virus-1 protease"

Seiten 17905-17908

(In der Abmeldung erwähnt)

A Biochemistry, Band 25, Nr. 18, 8. September 1987 (Easton, PA, US)

T.L. Blundell et al.: "On the rational design of renin inhibitors: X-ray studies of renin-inhibitors complexed with transition-state analogues"

Seiten 5585-5590

P.X. FEBS Letters, Band 247, Nr. 1, April 1989, (Strasbourg, FR)

I.V. Rechik et al.: "Possible role of some

1-9

1,3

"A" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"L" steht für die nationale Veröffentlichung "I".

"Q" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"P" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"R" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"S" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"T" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"U" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"V" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"W" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"X" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"Y" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"Z" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"AA" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"AB" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"AC" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"AD" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"AE" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationale Abgrenzung PCT/EP 90/00219

1. KLASSEMENT DER ANMELDUNGSGEGENSTÄNDE Nach dem internationalen Patentklassifizierungssystem (IPC) oder nach dem nationalen Klassifizierungssystem und der PCT

Int.Cl.⁵ A 61 K 37/64, C 07 K 5/02, 7/02

2. RECHERCHIERTE SACHGEBIETE

Chemische Verbindungen

Pharmazeutische Mittel (Pharmazeutika)

Chemische Verbindungen

Int.Cl.⁵ A 61 K, C 07 K

Rechtswesen nicht zum Klageverfahren gehörende Verfahrenspraktiken, soweit diese unter die rechtsverwaltenden Verfahren fallen

III. EINZELNE VERÖFFENTLICHUNGEN

Zur Kennzeichnung der Veröffentlichung "I" steht entweder unter Angabe der maßgebenden Seite 13

A The Journal of Biological Chemistry, Band 263, Nr. 24, 5. Dezember 1988

S. Billich et al.: "Synthetic peptides as substrates and inhibitors of human immune deficiency virus-1 protease"

Seiten 17905-17908

(In der Abmeldung erwähnt)

A Biochemistry, Band 25, Nr. 18, 8. September 1987 (Easton, PA, US)

T.L. Blundell et al.: "On the rational design of renin inhibitors: X-ray studies of renin-inhibitors complexed with transition-state analogues"

Seiten 5585-5590

P.X. FEBS Letters, Band 247, Nr. 1, April 1989, (Strasbourg, FR)

I.V. Rechik et al.: "Possible role of some

1-9

1,3

"A" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"L" steht für die nationale Veröffentlichung "I".

"Q" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"P" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"R" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"S" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"T" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"U" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"V" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"W" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"X" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"Y" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"Z" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"AA" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"AB" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"AC" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"AD" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

"AE" steht für die internationale Veröffentlichung "I".

